

**EFEKTIVITAS LARUTAN EKSTRAK ETHANOL KULIT BIJI KAKAO 0,1%  
TERHADAP PENURUNAN JUMLAH KOLONI *STREPTOCOCCUS*  
*MUTANS* PADA SALIVA ANAK USIA 12-14 TAHUN**

**SKRIPSI**

*Diajukan Kepada Universitas Hasanuddin  
Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat  
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi*

**Oleh :**



**ANNISA WICITA MUSTAIN**

**J111 11 004**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
MAKASSAR**

**2014**

**EFEKTIVITAS LARUTAN EKSTRAK ETANOL KULIT BIJI KAKAO 0,1%  
TERHADAP PENURUNAN JUMLAH KOLONI *STREPTOCOCCUS*  
*MUTANS* PADA SALIVA ANAK USIA 12-14 TAHUN**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada Universitas Hasanuddin  
Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat  
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi  
Oleh :**

**Annisa Wicita Mustain**

**J111 11 004**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
MAKASSAR  
2014**

## **HALAMAN PENGESAHAN**

Judul : Efektivitas Larutan Ekstrak Ethanol Kulit Biji Kakao 0,1% Terhadap Penurunan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* Pada saliva Anak Usia 1214 Tahun.

Oleh : Annisa Wicita Mustain / J111 11 004

Telah Diperiksa dan Disahkan

Pada tanggal 02 Oktober 2014

Oleh :

**Pembimbing**

**Dr. drg. Fajriani Ferri, M.Si**

**NIP : 19691130 199903 2 001**

Mengetahui

**Dekan Fakultas Kedokteran Gigi**

**Universitas Hasanuddin**

**Prof. drg. H. Mansjur Nasir, Ph.D**

**NIP : 19540625 198403 1 001**

## KATA PENGANTAR

Assalamu'alaykum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Efektivitas Larutan Ekstrak Ethanol Kulit Biji Kakao 0,1% Terhadap Penurunan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* Pada saliva Anak Usia 12-14 Tahun”. Salam dan shalawat tak lupa penulis panjatkan kepada Rasulullah SAW, yang menjadi teladan terbaik sepanjang masa. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana Kedokteran Gigi. Selain itu skripsi ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan peneliti lainnya untuk menambah pengetahuan dalam bidang kedokteran gigi anak.

Dalam skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menghaturkan banyak terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. drg. Mansjur Nasir, Ph.D selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi.
2. Dr. drg. Fajriani Ferri, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan banyak waktu untuk membimbing, mengarahkan, dan memberi nasehat penulis dalam membuat skripsi ini.
3. Prof. Dr. drg. Herlina, M.Kes selaku Penasehat Akademik, atas bimbingan, nasehat dan dukungan bagi penulis selama perkuliahan.

4. Ayahanda Drs. Mustain Lahafy dan Ibunda Nursiah tercinta yang senantiasa menjadi penopang spiritual dan material bagi penulis dan senantiasa mendoakan serta memotivasi selama masa sekolah penulis.
5. Kakak-kakak penulis, Almh. Rahmatia Mustain, dr. Ismawanty Mustain, Muammar Mustain S.Farm, Muh.Ichsan Mustain, S.KM dan Achmad Nur Alam Mustain atas doa dan motivasi bagi penulis selama masa sekolah.
6. Teman-teman SS tercinta (Rini, Nune, Usla, Kiki, Widya dan Rio), teman-teman Refreshing (Nugi, Adnan, Azrul, Ashar, Purwo, Tris) dan seluruh keluarga besar Oklusal 2011, yang senantiasa berbagi semangat, keceriaan, pengalaman dan pengetahuan untuk penulis selama masa perkuliahan.
7. Dwi Priyaseto Septiman, S.KG, Dewa Sagita Alfadin Nur dan dr. Agus Darwin atas motivasi dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi penulis.
8. Teman-teman KKN Profesi Kesehatan UNHAS angkatan 47 Kecamatan Tanralili, Kelurahan Borong (Hikma, Mimi, Kak Putri, Waiz, Febi, Mel, Adri, Mahdin, Al, dan Joel) atas motivasi dan keceriaan selama masa penulisan skripsi ini.
9. Teman seperjuangan skripsi, Winarmi atas bantuan dan kerja samanya dalam penyusunan skripsi ini.
10. Keluarga besar Asisten Oral Biologi Fakultas Kedokteran Gigi UNHAS atas pengertian dan pemakluman kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
11. Staf perpustakaan FKG UNHAS (kak Eda dan pak Amir) dan staf bagian Kedokteran Gigi Anak FKG UNHAS yang telah banyak membantu penulis.

12. Bapak Nana Supriatna (Kepala divisi Technical Purchasing PT. Barry Callebaut Comextra) atas bantuan dan kerjasamanya dalam penelitian penulis.

Tiada hal yang mampu penulis bekan sebagai balas budi selain mendoakan semoga bantuan dari berbagai pihak diberi balasan oleh Allah SWT.

Akhirnya, dengan segenap kerendahan hati, penulis mengharapkan agar kiranya tulisan ini dapat menjadi salah satu bahan pembelajaran dan peningkatan kualitas pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi UNHAS ke depannya, juga dalam usaha peningkatan perbaikan kualitas kesehatan gigi dan mulut masyarakat. Amiin.

Wassalamu'alaykum Warahmatullahi Wabarakatuh

Makassar, 02 Oktober 2014

Penulis

## ABSTRAK

**Latar belakang:** Polifenol yang terdapat pada kulit biji kakao memiliki aktivitas anti-bakteri, khususnya anti-glukosiltransferase. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh larutan ekstrak etanol kulit biji kakao terhadap penurunan jumlah *Streptococcus mutans* pada saliva anak dengan gigi permanen muda yang baru tumbuh sempurna ketika digunakan sebagai obat kumur. **Bahan dan metode:** Penelitian ini menggunakan desain *cross-sectional study* dengan studi eksperimen *time-series* dan memperoleh sampel secara *simple random* sebanyak 30 sampel. Sampel yang dipilih berdasarkan kriteria penelitian yaitu anak dengan OHI-S sedang. Setiap sampel mendapatkan perlakuan yang sama, yaitu langkah pertama pengambilan saliva sampel (sebelum intervensi), langkah kedua pemberian larutan kumur ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% sebanyak 15ml dan dikumurkan selama 30 detik. Setelah pemberian intervensi, dilakukan pengambilan saliva (sampel) sebanyak dua kali, yaitu 15 menit dan 30 menit setelah intervensi. Selanjutnya, dilakukan penghitungan jumlah koloni *Streptococcus mutans* dari sampel yang dihitung dengan satuan CFU (*Colony Forming Unit*). Kemudian dilakukan pengolahan dan analisis data dengan menggunakan program SPSS versi 22.0 for windows. **Hasil:** Dari hasil uji ANOVA dan uji t-berpasangan, menunjukkan penurunan jumlah koloni *Streptococcus mutans* secara signifikan dari sebelum intervensi sampai 30 menit setelah intervensi. Sebelum intervensi, didapatkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* rata-rata sebanyak 59.10 CFU/ml, kemudian 15 menit setelah intervensi jumlah koloni *Streptococcus mutans* rata-rata sebanyak 25.73 CFU/ml dan 30 menit setelah intervensi jumlah koloni *Streptococcus mutans* rata-rata sebanyak 9.40 CFU/ml. Dari hasil uji data diperoleh  $p = 0.000$  ( $p < 0.05$ ), dapat dikatakan penurunan jumlah koloni *Streptococcus mutans* ini signifikan. **Kesimpulan:** Menggunakan ekstrak etanol kulit biji kakao sebagai obat kumur untuk anak-anak terbukti sangat efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* di rongga mulut. **Kata kunci:** Ekstrak etanol kulit biji kakao, anti-glukosiltransferase, larutan kumur, *streptococcus mutans*.

## ABSTRACT

**Background:** Cacao bean husk ethanol extract (CBHEE) has Polifenol that active as anti-bacterial, specially anti-glucosyltransferase. **Aim:** This study aimed to see the effectiveness of cacao bean husk ethanol extract (CBHEE) to reduce the number of mutans streptococci colonies in children (with young permanent teeth) saliva, when CBHEE used as mouth rinse. **Materials and methods:** This study used cross-sectional study design with time-series experimental study and used simple random sampling to get 30 subjects. The choosen subjects is those who have middle OHI-S status. Each subject were given the same intervention, the first step is collected saliva from subjects (prior to intervention), the second step is subjects were given 15 ml of CBHEE 0.1% mouth rinse to rinse their mouth about 30 seconds. After intervention, saliva were collected twice in 15 minutes and 30 minutes after intervention. Furthermore, the number of mutans streptococci colonies were measured in Colony Forming Units (CFU) and the data was statistically analyzed using ANOVA and paired t-test. Data analyzed and proccessed using SPSS 22.0 for windows version. **Results:** From the data statistically showed significantly the reduction of Streptococcus mutans colonies before and after 30 minutes of intervention. Before intervention, There were 59.10 CFU/ml of mutans streptococci, and then 15 minutes after intervention it showed reduction of mutans streptococci become 25.73 CFU/ml and after 30 minutes of intervention, the counts of mutans streptococci showed reduction to 9.40 CFU/ml. From the test result, statistical value of this research was  $p=0.000$  ( $p<0.05$ ), which means that the reduction of mutans streptococci counts was significant. **Conclusion:** Using cacao bean husk ethanol extract as mouth rinse for children has been proven highly effective in reducing mutans streptococci colony counts in mouth.

**Key words:** Cacao bean husk ethanol extract, anti-glucosyltransferase, mouth rinse, mutans streptococci.



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
ABSTRAK .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
I.1 LATAR BELAKANG .....	1
I.2 RUMUSAN MASALAH .....	4
I.3 TUJUAN PENELITIAN .....	4
I.4 MANFAAT PENELITIAN .....	5
I.5 HIPOTESA PENELITIAN .....	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 BUAH KAKAO ( <i>Theobroma cacao L</i> ) .....	7
II.1.1 Klasifikasi Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao L</i> ) .....	7
II.1.2 Morfologi Buah Kakao .....	8
II.2 KULIT BIJI KAKAO .....	11
II.3. POLIFENOL .....	12
II.3.1 Jenis-jenis Polifenol .....	13
II.3.2 Sifat yang bermanfaat .....	17
II.3.3 Makanan yang kaya akan polifenol .....	17
II.3.4 Farmakologi .....	18
II.4 POLIFENOL PADA KAKAO .....	19

II.5	POLIFENOL UNTUK RONGGA MULUT	
II.5.1	Polifenol dan kanker mulut .....	21
II.6	POLIFENOL DAN KARIES GIGI .....	22
II.7	<i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i>	
II.7.1	Klasifikasi <i>Streptococcus mutans</i> .....	27
II.7.2	Morfologi <i>Streptococcus mutans</i> .....	27
II.8	<i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i> DAN KARIES GIGI .....	28
II.8.1	Resiko Karies Pada Anak .....	29
BAB III.	KERANGKA KONSEP .....	33
BAB IV.	METODE PENELITIAN	
IV.1	JENIS PENELITIAN .....	34
IV.2	DESAIN PENELITIAN .....	34
IV.3	LOKASI PENELITIAN .....	34
IV.4	WAKTU PENELITIAN .....	34
IV.5	POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN .....	35
IV.6	METODE PENGAMBILAN SAMPEL .....	35
IV.7	JUMLAH SAMPEL .....	35
IV.8	KRITERIA SAMPEL .....	35
IV.9	VARIABEL PENELITIAN .....	35
IV.10	ALAT DAN BAHAN .....	36
IV.11	DEFINISI OPERASIONAL .....	36
IV.12	PROSEDUR PENELITIAN .....	37
IV.13	DATA PENELITIAN .....	40
IV.15	ALUR PENELITIAN .....	41

BAB V. HASIL PENELITIAN .....	42
BAB VI. PEMBAHASAN .....	48
BAB VII. PENUTUP	
VII.1 KESIMPULAN .....	51
VII.2 SARAN .....	51
DAFTAR PUSTAKA .....	53
LAMPIRAN	

## DAFTAR GAMBAR DAN TABEL

Gambar II.1	Bagian-bagian buah kakao .....	7
Gambar II.2	Struktur kimia senyawa Asam fenol .....	13
Gambar II.3	Struktur kimia senyawa Lignan .....	14
Gambar II.4	Struktur kimia senyawa Stilben .....	14
Gambar II.5	Struktur kimia beberapa kelompok senyawa turunan flavonoid .....	15
Gambar II. 6	Beberapa kelompok turunan senyawa flavonoid yang spesifik ditemukan pada kakao .....	16
Gambar II.7	<i>Streptococcus mutans</i> .....	27
Gambar II.8	Penurunan jumlah koloni <i>Streptococcus mutans</i> sampel 1 dan 2 dalam interval waktu penelitian (pre-post1-post2) .....	44
Tabel V.1	Distribusi karakteristik sampel penelitian .....	42
Tabel V.2	Perbedaan efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0.1% menurut interval waktu .....	43
Tabel V.3	Perbedaan efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% menurut interval waktu terkait dengan Kelompok Usia .....	44
Tabel V.4	Perbedaan efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% berdasarkan Kelompok Waktu Perlakuan .....	45

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1 LATAR BELAKANG**

Saat ini pemerintah Indonesia masih dalam upaya meningkatkan kesehatan gigi dan mulut masyarakat. Betapa tidak, data yang tercantum di RISKESDAS 2007 mengenai jumlah masyarakat Indonesia yang memiliki masalah kesehatan gigi dan mulut secara keseluruhan mencapai 23,4% dan secara khusus dirincikan di Sulawesi selatan adalah sebanyak 25,3%. Adapun upaya peningkatan kesehatan gigi dan mulut masyarakat dalam program-program berbentuk promotif, preventif, protektif, kuratif maupun rehabilitatif.<sup>1</sup>

Kurangnya pengetahuan masyarakat mengenai kesehatan gigi dan mulut dan masalah kebiasaan menyikat gigi menjadi penyebab dari tingginya angka prevalensi penduduk mengalami penyakit gigi dan mulut. Salah satu contoh penyakit gigi yang paling mudah ditemukan adalah karies gigi. Karies gigi merupakan suatu penyakit infeksi gigi yang diselingi dengan proses demineralisasi yang progresif pada lapisan jaringan keras gigi. Terdapat faktor yang menjadi penyebab karies, diantaranya mikroorganisme, substrat, *host*, dan waktu. Karies baru bisa terjadi hanya kalau keempat faktor tersebut.<sup>2,3</sup>

Salah satu bakteri yang menghasilkan asam yang dapat merusak lapisan gigi adalah *Streptococcus mutans*, yang merupakan flora normal rongga mulut akan tetapi apabila jumlahnya meningkat dapat memberikan resiko karies yang tinggi terhadap suatu individu.

Upaya pereventif karies dapat diwujudkan dalam penjagaan kebersihan rongga mulut, misalnya waktu menggosok gigi yang baik dan benar adalah setiap hari pada saat pagi setelah sarapan dan malam sebelum tidur. Berdasarkan data riskesdas 2007, tercatat bahwa penduduk di atas usia 10 tahun sebanyak 91,1% yang memiliki kebiasaan menggosok gigi setiap hari. Masyarakat yang menggosok gigi setiap hari setelah sarapan hanya 12,6% dan masyarakat yang menyikat gigi malam sebelum tidur adalah 28,7%.<sup>1</sup>

Akan tetapi dalam beberapa hal, prosedur penjagaan kebersihan rongga mulut saja tidak cukup. Penambahan zat antimikroba pada produk kesehatan gigi dan mulut juga dinilai penting.<sup>4</sup>

Polifenol merupakan senyawa fitokimia alami ditemukan pada tumbuhan ang dapat dikonsumsi oleh manusia seperti buah-buahan, sayuran, biji-bijian seperti kacang polong, kopi, kakao, ditemukan juga di teh dan anggur. Terdapat lebih dari 8000 senyawa polifenol termasuk asam fenol, flavonoid, lignan dan polimer lignan yang bekerja sebagai pertahanan melawan radiasi ultraviolet, oksidan, dan patogen.<sup>5</sup>

Polifenol didominasi oleh katekin dan epillogalkatekin, diketahui sebagai zat antimikroba yang dapat melawan *Streptococcus mutans*. Polifenol terkandung dalam beberapa tanaman herbal, salah satunya buah kakao (*Theobroma cacao L.*). Buah kakao kaya akan polifenol sehingga seringkali dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam suatu pengobatan.<sup>4</sup>

Di Indonesia, hasil panen dan kakao mengalami kemajuan yang sangat pesat dalam 25 tahun terakhir. Sulawesi merupakan daerah yang paling banyak menghasilkan kakao di Indonesia, khususnya Sulawesi Selatan yang menghasilkan biji kakao mencapai 70% dari seluruh hasil produksi Indonesia. Produksi kakao di

Sulawesi Selatan tahun 2010 mencapai 172.083 ton dengan luas areal perkebunan rakyat sebesar 265.985 Ha yang tersebar pada 21 Kabupaten terutama Kabupaten Luwu Utara, Soppeng, Pinrang, Wajo, Sinjai dan Bulukumba (Dinas Perkebunan, 2010).<sup>6,7</sup>

Salah satu pabrik kakao terbesar di Asia yaitu PT. Barry Callebaut Comextra Indonesia (BCCI) yang terdapat di Makassar, Sulawesi Selatan. Selain mengolah biji kakao menjadi coklat, pabrik ini juga menghasilkan limbah pabrik biji kakao yaitu kulit biji kakao. Masyarakat umumnya seringkali menganggap bahwa hanya biji kakao yang memiliki manfaat dan kulit biji kakao hanya limbah. Akan tetapi saat ini sudah mulai berkembang penelitian-penelitian mengenai manfaat dari zat yang terkandung dalam kulit biji kakao dan telah ditemukan bahwa kulit biji kakao mengandung senyawa polifenol sebagai zat antioksidan dan zat antimikroba.

Dalam bidang kedokteran gigi pun terdapat beberapa penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak kulit biji kakao memiliki manfaat yang signifikan terhadap kesehatan rongga mulut. Berdasarkan penelitian oleh Ooshima *et.al* (2000) ekstrak kulit biji kakao selain memiliki aktivitas antibakteri juga memiliki aktivitas anti-glukosiltransferase yang dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai bakteri patogen penyebab karies gigi.<sup>8,9</sup>

Dari pemaparan diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai Efektivitas Larutan Ekstrak Ethanol Kulit Biji Kakao 0,1% Terhadap Penurunan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* Pada saliva Anak Usia 12-14 Tahun.

Penelitian ini akan dimulai dengan menelusuri informasi mengenai ekstrak kulit ari biji kakao dan pengaruhnya terhadap *Streptococcus mutans*. Dan apabila penelitian ini dapat diselenggarakan, peneliti berharap dapat memberikan penjelasan

dan gambaran bagaimana ekstrak etanol kulit biji kakao dapat menurunkan jumlah *Streptococcus mutans* apabila digunakan sebagai bahan utama obat kumur pada anak usia 12-14 tahun. Intervensi dilakukan hanya pada anak usia 12-14 tahun saja, karena di masa itu merupakan masa awal gigi permanen muda erupsi sempurna dan berakhirnya masa gigi bercampur. Dan diharapkan hasil penelitian ini dapat melengkapi penelitian selanjutnya, sehingga dapat membantu upaya pemerintah dalam pencegahan karies pada anak dan mengurangi keparahan karies anak.

## **I.2 RUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan uraian latar belakang dari penelitian ini, maka dirumuskan masalah apakah ekstrak etanol kulit biji kakao memiliki manfaat dalam menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada saliva anak umur 12-14 tahun?

## **I.3 TUJUAN PENELITIAN**

### **I.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui efektivitas larutan ekstrak ethanol kulit biji kakao 0,1% terhadap koloni *Streptococcus mutans* pada saliva anak umur 12-14 tahun.

### **I.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui zat apa yang terkandung dalam ekstrak kulit biji kakao yang berperan aktif menghambat terbentuknya karies gigi.
2. Untuk mengetahui bagaimana pembuatan obat kumur dari ekstrak kulit biji kakao.



3. Untuk membuktikan bahwa ekstrak kulit biji kakao juga memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* di rongga mulut manusia.
4. Untuk melihat efektivitas larutan ekstrak ethanol 0,1% dalam menurunkan jumlah koloni *S.mutans* apabila digunakan sebagai larutan kumur pada anak usia 12-14 tahun.

#### **I. 4 MANFAAT PENELITIAN**

1. Untuk Mahasiswa:
  - a. Dapat digunakan untuk membantu penelitian lanjutan dan mengembangkan pengetahuan lainnya.
  - b. Membantu penulis dalam mengembangkan ilmu pengetahuan di bidang Kedokteran Gigi mendapatkan informasi baru mengenai zat aktif yang terkandung dalam kulit biji kakao yang memiliki efektivitas menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* di rongga mulut.

2. Untuk Instansi

Dapat dijadikan pertimbangan dalam pembuatan produk-produk yang bersifat preventif untuk kesehatan gigi dan mulut masyarakat. Dan mempertimbangkan pengelolaan limbah produksi dalam hal ini kulit biji coklat yang memiliki banyak manfaat dalam kesehatan masyarakat.

3. Untuk masyarakat

Masyarakat dapat mengetahui manfaat dari limbah produksi coklat dan meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai tindakan pencegahan terhadap penyakit gigi dan mulut.

## **I.5 HIPOTESIS PENELITIAN**

Larutan ekstrak ethanol kulit biji kakao 0,1% dapat menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada saliva anak usia 12-14 tahun apabila digunakan sebagai bahan utama obat kumur.

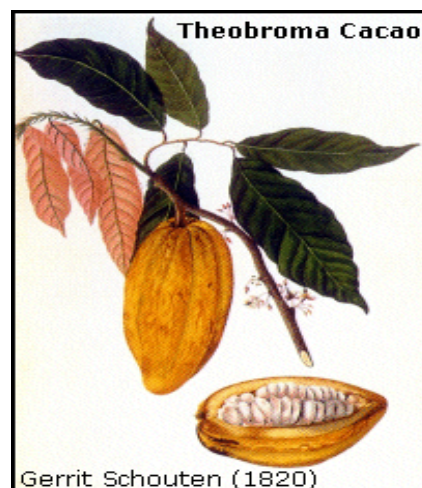
## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II. 1 BUAH KAKAO (*Theobroma cacao* L)**

##### **II.1.1 Klasifikasi Buah Kakao (*Theobroma cacao* L)**

Nama *Theobroma* yang berarti “Makanan Tuhan” diberikan oleh seorang botanist Swedia yang bernama Linnaeus (Knight, 1999).<sup>10</sup>



Gambar II.1. Bagian-bagian buah kakao. *Sumber:* Theobroma Cacao L- Cacao. Available from: <http://www.tropilab.com/cacao.html>. Accessed December 12, 2013

Taksonomi kakao menurut Tjitrosoepomo (1988) adalah sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiosperma

Kelas : Dicotyledoneae

Sub Kelas : Dialypetalae

Bangsa : Malvales  
Suku : Sterculiaceae  
Marga : Theobroma  
Jenis : Theobroma cacao L

### **II.1.2 Morfologi Buah Kakao**

Menurut Sunanto (1999), secara umum tanaman kakao terdiri dari beberapa bagian, yaitu batang, daun, bunga, akar, buah, dan biji. Masing-masing bagian memiliki karakteristik (morfologi) dan fungsi (fisiologi) tertentu, yaitu :

#### **1. Batang dan cabang**

Tanaman kakao memiliki sifat dimorfisme, yaitu memiliki dua bentuk tunas vegetatif. Tunas yang arah pertumbuhannya ke atas disebut tunas ortotrop, sedangkan yang arah pertumbuhannya ke samping disebut plagiotrop, cabang kipas atau *fan*. Pada pertumbuhannya yang berasal dari biji, akan terbentuk perempatan (jorket) pada pertumbuhan vertikalnya. Jorket merupakan tempat perubahan pola percabangan, yakni dari tipe ortotrop ke plagiotrop.

#### **2. Daun**

Bentuk helai daun pohon kakao bulat memanjang, ujung daun meruncing, dan pangkal daun runcing. Susunan tulang daun menyirip dan tulang daun menonjol ke permukaan bawah helai daun. Tepi daun rata, daging daun tipis tetapi kuat. Warna daun dewasa hijau tua. Panjang daun dewasa 30 cm dan lebarnya 10 cm. Permukaan daun licin dan mengkilap.

### 3. Akar

Kakao adalah tanaman dengan *surface root feeder*, artinya sebagian besar akar lateralnya mendatar berkembang dekat permukaan tanah, yaitu pada kedalaman 0-30 cm. Pertumbuhan akar sangat peka pada hambatan baik berupa batu, lapisan keras, maupun air tanah. Apabila selama pertumbuhan akar berbenturan dengan batu, akar akan membelah diri menjadi dua dan masing-masing tumbuh geosentris (mengarah ke dalam tanah). Apabila batu yang berbenturan terlalu besar, sebagian akar lateral mengambil alih fungsi akar tunggang dengan tumbuh ke bawah.

### 4. Bunga

Tanaman kakao bersifat kauliflori. Artinya, bunga tumbuh dan berkembang dari bekas ketiak daun pada batang dan cabang. Tempat tumbuh bunga tersebut semakin lama semakin membesar dan menebal atau biasa disebut dengan bantalan bunga. Pembungaan tanaman kakao sangat dipengaruhi oleh faktor dalam (internal) dan faktor lingkungan (iklim). Pada lokasi tertentu, pembungaan sangat terhambat oleh musim kemarau atau musim dingin. Namun, di lokasi yang curah hujannya merata sepanjang tahun serta fluktuasi suhunya kecil, tanaman akan berbunga sepanjang tahun.

### 5. Buah dan biji

Warna buah kakao sangat beragam, tetapi pada dasarnya hanya ada dua macam warna. Buah yang ketika muda berwarna hijau atau hijau agak putih, apabila sudah masak berwarna kuning. Buah yang ketika muda berwarna merah, setelah masak berwarna jingga. Biji tersusun dalam lima baris mengelilingi poros buah (plasenta), dengan jumlah 20-50 biji. Jika dibelah

melintang, biji terlihat tersusun dari dua kotiledon. Biji dibungkus oleh kulit ari yang berwarna putih dan rasanya manis. Di dalam kulit ari mengandung zat penghambat perkecambahan. Namun terkadang biji berkecambah di dalam buah karena terlambat dipanen sehingga kulit arinya menjadi terlalu kering. Kulit buah memiliki 10 alur dalam dan dangkal yang letaknya berselang-seling. Pada tipe criollo dan trinitario alur kelihatan jelas. Kulit buahnya tebal tetapi lunak dan permukaannya kasar. Sebaliknya, pada tipe forasero, permukaan kulit buah pada umumnya halus (rata), kulitnya tipis, tetapi liat.<sup>10</sup>

*Theobroma cacao* merupakan spesies tanaman yang secara besar-besaran diproduksi oleh beberapa negara, misalnya Ivory Coast, Ghana, Nigeria, Kamerun, Brazil, Equador, Indonesia dan Malaysia. Ada beberapa jenis kakao yaitu, Forastero, Criollo, dan Trinitario. Forastero dan Criollo adalah jenis kakao yang paling banyak ditanam, di Amerika jenis criollo adalah yang paling banyak ditanam, namun diproduksi dalam jumlah kecil.

Saat ini, Ivory Coast memiliki produksi kakao yang paling banyak di dunia, diikuti oleh Ghana dan Indonesia. Produksi biji kakao dunia pada tahun 2008-2009 sekitar 3520.000 ton.<sup>11</sup>

Di Indonesia, hasil panen dan kakao mengalami kemajuan yang sangat pesat dalam 25 tahun terakhir. Sulawesi merupakan daerah yang paling banyak menghasilkan kakao di Indonesia, khususnya Sulawesi Selatan yang menghasilkan biji kakao mencapai 70% dari seluruh hasil produksi Indonesia. Produksi kakao di Sulawesi Selatan tahun 2010 mencapai 172.083 ton dengan luas area perkebunan rakyat sebesar 265.985 Ha yang tersebar pada 21 Kabupaten terutama Kabupaten

Luwu Utara, Soppeng, Pinrang, Wajo, Sinjai dan Bulukumba (Dinas Perkebunan, 2010).<sup>6,7</sup>

## **II.2 KULIT BIJI KAKAO**

Kulit biji kakao adalah bagian dari buah kakao yang membungkus biji kakao. Kulit biji kakao merupakan limbah dari industri coklat. Telah terbukti memiliki substansi kariostatik, satu menunjukkan anti-glukosiltransferase dan yang lain menunjukkan aktivitas antibakteri.<sup>12</sup>

Dari penelitian sebelumnya mengenai identifikasi kariostatik dari kandungan kulit biji kakao menunjukkan kandungan polifenol memiliki aktivitas anti-glukosiltransferase yang kuat. Komponen utama dari polifenol yang terdapat pada kulit biji kakao adalah katekin dan epikatekin. Selain itu, dari penelitian ini ditemukan kandungan asam lemak bebas seperti asam oleic dan asam linoleic yang menunjukkan aktivitas bakterisid yang kuat terhadap *S.mutans*. Fukui *et.al.* (1980) mendemonstrasikan bahwa kedua jenis asam lemak bebas ini memiliki antibakteri yang kuat yang melawan *S.mutans*, sedangkan asam oleic menunjukkan kerjanya dalam mencegah pertumbuhan *S.mutans*. Berbagai jenis flavonoid juga ditemukan pada kulit biji kakao.<sup>13,18</sup>

Kulit biji kakao memiliki nilai gizi yang tinggi dan oleh karena itu dapat digunakan sebagai sumber potensi gizi yang murah. Telah ditemukan juga bahwa aseton secara efektif mengekstrak polifenol lebih baik dari pada pelarut lainnya seperti etanol dan metanol. Namun bagaimanapun, telah dicatat bahwa tidak ada hubungan yang jelas antara level fenol dan kekuatan antimikroba. Kenyataannya bahwa jumlah

total serat makanan dari kulit biji kakao sangatlah tinggi, yaitu lebih dari 60% dari kulit biji kakao kering.<sup>20</sup>

Berdasarkan penelitian yang sebelumnya pernah dilakukan penelitian pada ekstrak kulit biji kakao didapatkan MIC dari kulit biji kakao tersebut terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah 1 mg/ml. Kulit biji kakao merupakan limbah dalam industri cokelat yang diketahui mengandung sejumlah besar polifenol dan serat makanan, seperti selulosa, pektin, dan lignin. Ekstrak kulit biji kakao telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan antiglukosiltransferase melalui asam lemak tak jenuh dan polimer epikatekin. Aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit biji kakao diuji secara *in vitro* dan *in vivo*. Ekstrak kulit biji kakao tersebut dapat menghambat perlekatan *Streptococcus mutans* pada saliva dan mengurangi akumulasi *artificial dental plaque* oleh *Streptococcus mutans*.<sup>22</sup>

### II.3 POLIFENOL

Senyawa fenol atau polifenol merupakan salah satu kelompok senyawa yang paling banyak dan paling luas tersebar di tanaman dengan jumlah lebih dari 8000 struktur fenol yang baru saja diketahui. Polihidroksi fenol adalah fitokimia antioksidan (seperti asam klorogenik) yang cenderung mencegah atau menetralkan efek kerusakan dari radikal bebas. Fitokimia merupakan senyawa kimia yang secara alami ditemukan pada tanaman (fito berarti “tanaman” dalam bahasa Yunani). Polifenol merupakan senyawa fitokimia alami yang terdapat di tanaman yang dikonsumsi seperti buah-buahan, sayur-sayuran, teh, anggur, kacang polong, biji-bijian seperti kakao, kopi, gandum dsb. Senyawa-senyawa polifenol digunakan sebagai anti-diabetes, anti-arthritis, anti-viral, anti-fungal, anti-oksidan, penyakit kardiovaskular. Polifenol melindungi sel-sel tubuh melawan kerusakan yang



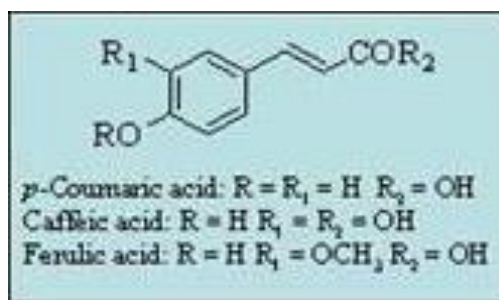
diakibatkan oleh radikal bebas, dan mengaktifkan kembali atom-atom yang berkontribusi pada kerusakan jaringan tubuh.<sup>5,19</sup>

### II.3.1 Jenis-jenis Polifenol

Polifenol merupakan hasil metabolisme tanaman dengan karakteristik terdapat beberapa kelompok polifenol (misalnya, cincin aromatic dengan hidroksil), yang diturunkan dari L-phenylalanine. Kelompok polifenol yang paling penting adalah asam fenol, termasuk struktur polimeriknya seperti tannin, lignan, silbene, dan flavonoid.

#### Asam Fenol

Asam fenol ini kira-kira merupakan senyawa polifenol ketiga dalam makanan dan termasuk kedalam 2 kelas utama turunan asam hidroksibenzoik dan turunan asam hidroksinamik. Buah beri, kiwi, ceri, apel, pir dan kopi merupakan buah-buahan yang memiliki kandungan asam fenol yang tinggi.

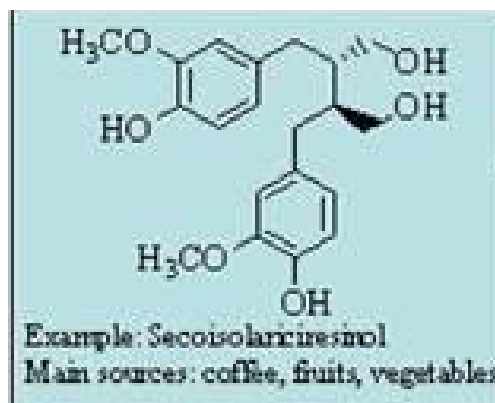


Gambar II.2. Struktur kimia senyawa Asam fenol.<sup>17</sup> Sumber: Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties. Molecules. Available from: [www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules). Accessed on September 5, 2014.

#### Lignan

Lignan terbentuk dari 2 unit fenil propan dan sumber lignan paling banyak terdapat di biji rami, sedangkan tumbuhan polong, sereal (gandum), sayuran (bawang

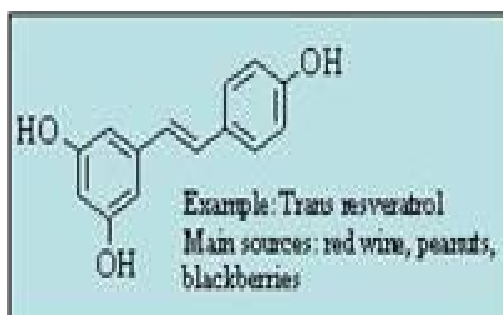
putih, asparagus, wortel), dan buah-buahan (pir dan prem) merupakan sumber kecil lignan. Lignan dimetabolisme menjadi enterodiol dan enterolakton oleh microflora pada usus.



Gambar II.3. Struktur kimia senyawa Lignan.<sup>17</sup> Sumber: Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties. Molecules. Available from: [www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules) Accessed on September 5, 2014.

## Stilben

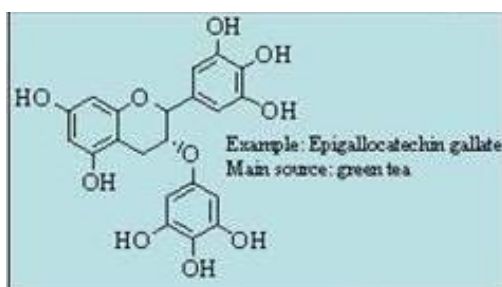
Kelompok Stilben ditemukan di makanan hanya dalam jumlah yang kecil. Salah satunya yaitu, resveratrol yang memiliki efek antikarsinogenik yang ditemukan dalam jumlah kecil pada anggur. Bagaimanapun, karena resveratrol ditemukan dalam jumlah kecil di makanan, efek perlindungan dari molekul ini tidak seperti makanan nutrisi yang normal.



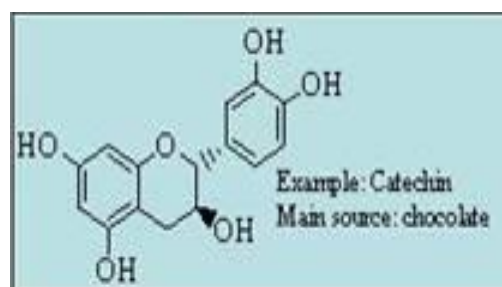
Gambar II.4. Struktur kimia senyawa Stilben.<sup>17</sup> Sumber: Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties. Molecules. Available from: [www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules) Accessed on September 5, 2014.

## Flavonoid

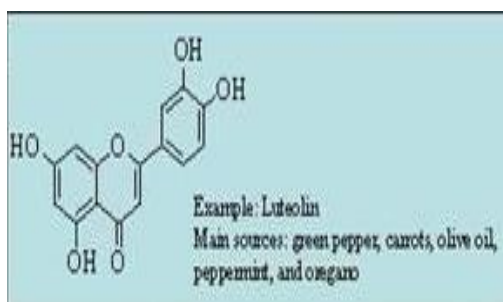
Flavonoid merupakan satu kelompok polifenol yang paling penting, dapat dibagi menjadi 13 kelas dengan lebih dari 5000 senyawa. Beberapa bagian dari flavonoid yaitu flavonols (misalnya, quercetin dan kaempferol), flavanol (misalnya monomer dan tannin), flavon, isoflavon, flavonon, antosianidin (bertanggung jawab atas pigmen untuk warna pada buah). Senyawa-senyawa flavonoid, khususnya katekin, epikatekin, gallokatekin dan epigallokatekin merupakan senyawa monomerik dari tannin, meskipun senyawa-senyawa tersebut juga merupakan monomer bebas.<sup>17,19</sup>



**A. Struktur kimia flavanol**

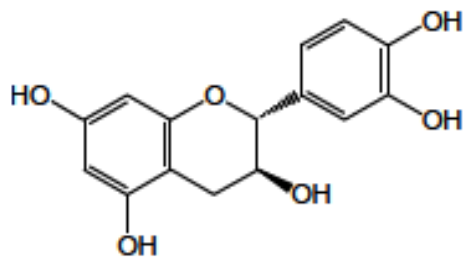


**B. Monomer Flavanol**

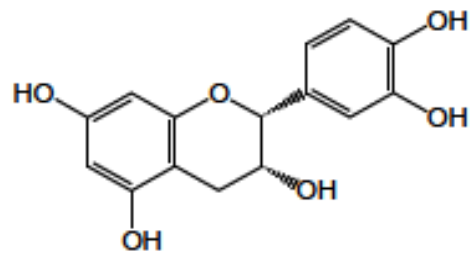


**C. Struktur kimia flavanol**

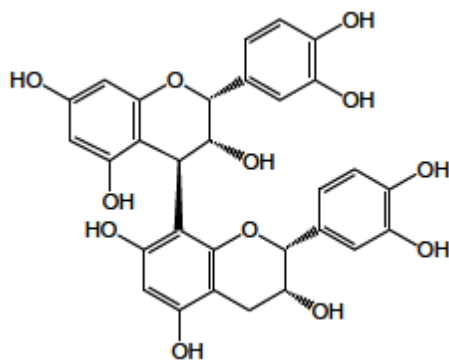
Gambar II.5. Struktur kimia beberapa kelompok senyawa turunan flavonoid.<sup>17</sup> Sumber: Plant Polyphenols and Their Anti-Carcinogenic Properties. Molecules. Available from: [www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules). Accessed on September 5, 2014.



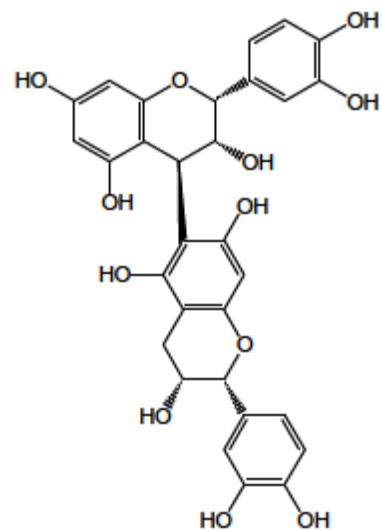
**A. Struktur kimia katekin**



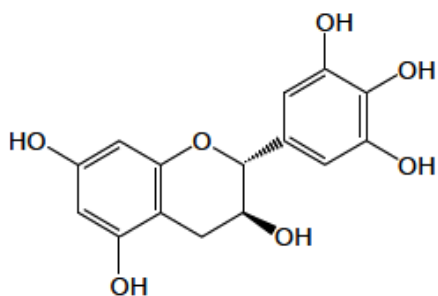
**B. Struktur kimia epikatekin**



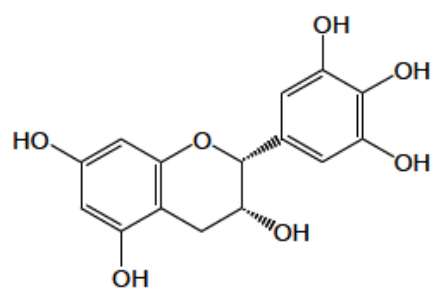
**C. Struktur kimia gallokatekin**



**D. Struktur kimia gallokatekin**



**E. Struktur kimia gallokatekin**



**F. Struktur kimia epigallokatekin**

Gambar II. 6. Beberapa kelompok turunan senyawa flavonoid yang spesifik ditemukan pada kakao.<sup>19</sup> Sumber: Wollgast Jan. The contents and effects of polyphenols in chocolate. Dissertation. University of Gießen: 2004: 20-21.

### **II.3.2 Sifat yang bermanfaat**

Beberapa aktivitas biologis dan sifat-sifat yang bermanfaat dari makanan yang memiliki polifenol telah dilaporkan, dan beberapa diantaranya adalah sebagai anti-oksidan, anti-alergi, anti-inflamasi, anti-viral dan anti-mikroba, anti-proliferasi, anti-mutagen, anti-karsinogen, induksi enzim antioksidan. Dan yang lebih menarik, makanan yang kaya akan polifenol dapat mengatur beberapa arah jalan sel.<sup>5,16</sup>

### **II.3.3 Makanan yang kaya akan polifenol**

#### **Buah-buahan**

Tercatat bahwa bluberi, stroberi, rasberi, anggur, bilberi, ceri, apel, dan plum merupakan sumber Polifenol yang baik, sebaik sumber polifenol lainnya.

#### **Sayur-sayuran**

Semua sayuran mengandung polifenol atau anti-oksidan lainnya, sementara kandungan polifenol pada bawang merah dan kentang telah terbukti dari sedang menjadi tinggi kandungan polifenolnya. Sayur-sayuran yang seharusnya dipilih untuk dikonsumsi dalam seminggu adalah yang warnanya cerah seperti merah, jingga, kuning, ungu, putih dan hijau. Misalnya, bawang putih, jamur, akar glisiriza.

#### **Padi-padian, Biji-bijian dan Kacang-kacangan**

Gandum dan semua padi-padian yang didapatkan di roti dan sereal mengandung berbagai level polifenol. Kacang kedelai dan kacang tanah juga terdaftar sebagai sumber yang baik dari anti-oksidan ini. Beberapa porsi dari padi-padian (gandum) sebaiknya dikonsumsi tiap hari, diselingi dengan kacang-kacangan dan biji-bijian.

## **Makanan dan Minuman lainnya**

Beberapa minuman baik sebagai sumber polifenol, kopi sebagai minuman yang paling banyak kandungan polifenolnya. Teh, khususnya teh hijau sebaiknya juga dikonsumsi secara tetap karena kandungan polifenolnya yang tinggi. Anggur merah, anggur putih dan kakao merupakan pilihan yang lebih baik untuk polifenol. Coklat dan margarin juga mengandung anti-oksidan ini.<sup>5,16</sup>

### **II.3.4 Farmakologi**

#### **Aktivitas Anti-oksidan**

Teh hijau dikonsumsi sebagai minuman yang terkenal di dunia, secara khusus di negara-negara Asia. Polifenol ini (epikathekin) menunjukkan aktivitas anti-oksidan. Banyak penelitian menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau juga memiliki aktivitas anti-inflamasi (Katiyar SK *et al*).

#### **Aktivitas Antikarsinogenik**

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kulit yang terpapar radiasi ultraviolet (UV) mengakibatkan berbagai efek merugikan dalam perkembangan kanker kulit. Proantosianidin yang terdapat pada biji anggur menunjukkan beberapa efek biologis, termasuk pencegahan terhadap foto-karsinogenik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa makanan dengan proantosianidin dapat berfungsi pada kerusakan akibat ultraviolet pada kulit manusia.

#### **Aktivitas Anti-ulser**

Osakabe N *et al.*, menguji aktivitas anti-ulser dari polifenol larutan kakao mentah, alfa-tokopherol, sucralfat, dan simetidine diatur secara oral pada tikus jantan sebelum perawatan etanol. Polifenol mengurangi aktivitas enzim merupakan sumber

utama dari radikal oksigen. Mereka melaporkan bahwa mekanisme anti-ulser dari kakao tidak hanya mencari-cari radikal tapi juga mengatur fungsi leukosit.

### **Aktivitas Antiviral**

Polifenol dari teh mengandung katekin, proantosianidin, flavonol, dan theaflavin digunakan untuk menghambat infeksi virus influenza, hasilnya diharapkan dapat memelengkapi panduan untuk desain rasional dari obat-obatan antiviral dengan bahan dasar polifenol.

### **Aktivitas anti-bakterial**

Nikitina VS *et al.*, mengevaluasi bahwa senyawa polifenol terdapat di ekstrak tanaman dari famili *Geraniaseae* dan *Rosaceae* yang telah diuji aktivitas perlawanannya terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif dari genus *Azotobakter*, *Bacillus* dan *Pseudomona*. Tanaman dari famili *Geraniaseae* dan *Rosaceae* memiliki sumber senyawa polifenol yang memperlihatkan aktivitas bakterisid, termasuk melawan bakteri patogen oportunistik.<sup>5</sup>

## **II.4 POLIFENOL PADA KAKAO**

Penelitian mengenai polifenol pada kakao telah dikumpulkan sejak awal tahun 50-an karena berbagai jenis komponennya. Hanya antosianin, katekin, proantosianidin, dan beberapa asam fenol telah diidentifikasi pada buah *Theobroma cacao* L yang tidak difermentasi. Polifenol pada biji kakao tersimpan di dalam sel pigmen dari kotiledon.<sup>19</sup>

Biji kakao dan bagian lain dari kakao telah diteliti secara meluas mengenai aktivitasnya sebagai anti-oksidan dan dalam meningkatkan kesehatan. Biji kakao mentah dilaporkan memiliki total polifenol sebesar 60% yang terdiri atas monomer

flavanol (epikatekin dan katekin) dan oligomer prosianidin (dimmer-dekamer). Senyawa-senyawa ini terlibat sebagai bakal potensial melawan radikal bebas. Selain itu, ditemukan juga galokatekin dan epigalokatekin dalam jumlah kecil pada kakao, sedangkan dua senyawa ini ditemukan dalam jumlah banyak pada teh.<sup>17,19</sup>

Suatu penelitian pernah melaporkan bahwa pertama kali adanya jumlah kecil dari senyawa tambahan flavonoid glikosid utamanya adalah turunan quersetin dan asam hidroksinamik, dan beberapa bagian mengandung asam klorogenik pada penyemaian kotiledon. Lebih dari dua dekade yang lalu, secara berturut-turut digambarkan adanya aglikon quersitin dan ikatan quersitin-arabinos, glukosa dan galaktosa pada cairan kakao dan bubuk kakao. Baru saja suatu penelitian melaporkan beberapa senyawa flavonoid lainnya yang sejauh ini tidak pernah ditemukan pada bubuk kakao termasuk naringenin, luteolin, apigenin, dan beberapa glukosid. Dari senyawa ini.<sup>19</sup>

Menggunakan metode kolorimetrik Folin-Ciocalteu, Waterhouse et.al pada tahun 1996 menemukan 8,4 mg polifenol per 1 g coklat hitam, 5.0 mg polifenol per 1 g coklat susu dan 20 mg polifenol per 1 g bubuk kakao. Sedangkan, Vinson et.al pada tahun 1999 menemukan jumlah yang lebih besar (36.5 mg per 1 g coklat hitam, 15 mg polifenol per 1 g coklat susu dan 65 mg polifenol per 1 g bubuk kakao) dengan menggunakan metode yang sama tapi katekin sebagai standar polifenolnya. Jumlah ini lebih tinggi apabila dibandingkan dengan hasil penelitian Adamson et.al pada tahun 1999, menggunakan alat kromatografi yang dikenal dengan istilah High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk menilai kuantitas dari katekin dan prosianidin. Hasilnya, coklat susu hanya memiliki 0.7 g polifenol per gramnya dan 1.7 mg polifenol per gram coklat hitam.<sup>19</sup>



## **II.5 POLIFENOL UNTUK RONGGA MULUT**

Hiptesis sebelumnya dari aktivitas langsung anti-oksidan dari polifenol berpotensi valid dalam menjelaskan efek pencegahan melawan penyakit pada rongga mulut, dimana polifenol berhubungan kontak langsung dengan jaringan sebelum diserap dan dimetabolisme dan diaktivasi menjadi aglikon oleh enzim manusia dan enzim bakteri.<sup>9</sup>

### **II.5.1 Polifenol dan kanker mulut**

Potensi aktivitas pencegahan dari beberapa senyawa polifenol melawan sel karsinoma squamosa rongga mulut, bentuk paling biasa dari kanker mulut, dilaporkan dalam penelitian terhadap hewan dan penelitian *in vitro*. Senyawa polifenol yang dimaksud adalah katekin dari teh, menghambat produksi dari metalloprotease yang penting, jadi berpotensi menurunkan invasi dan migrasi, dan mempengaruhi apoptosis. Flavonoid metoksilat, yang terdapat di buah jeruk, cabe dan sirih, menghambat DNA dalam pembentukan benda karsinogenik yang diketahui, misalnya nitrosamin tembakau. Konsentrasi proantosianidin yang tinggi terdapat di anggur merah, buah-buahan dengan warna cerah, kacang-kacangan dan coklat. Proantosianidin mampu mengurangi proliferasi pada sel kanker rongga mulut yang terinfeksi dari virus papilloma, terlibat dalam pengembangan beberapa jenis kanker mulut, menghambat proliferasi pada sel-sel yang tidak terinfeksi, menunjukkan aktivitas sitotoksik dan menginduksi apoptosis dan diferensiasi sel. Pada penelitian di Afrika selatan, dilaporkan bahwa kurangnya konsumsi sayur-sayuran dan buah-buahan yang kandungan polifenolnya rendah mengakibatkan kanker esofaring pada 7% wanita dan 10% pria. Berdasarkan suatu penelitian *case control* di Italia, bahwa

makanan yang kaya akan flavonoid mengurangi 50% kemungkinan perkembangan kanker mulut dan faring.<sup>9</sup>

## II.6 POLIFENOL DAN KARIES GIGI

Pengaruh polifenol melawan karies gigi umumnya sudah diselidiki secara tidak langsung. Beberapa penelitian *in vitro* menyelidiki efek ekstrak tanaman melawan *Streptococcus mutans* dan efek senyawa polifenol tertentu melawan *Streptococcus mutans*, penelitian-penelitian tersebut juga dilakukan pada hewan dan manusia.

1. Penelitian *in vitro* mengenai efek dari ekstrak tanaman melawan *Streptococcus mutans*. Delapan penelitian secara konsisten melaporkan bahwa ekstrak tanaman menghambat aktivitas glukosiltransferase (GTF) dan sintesis glukukan tidak larut. Sepuluh penelitian dengan desain heterogen, melaporkan adanya penghambatan pada permukaan yang keras, 3 dari 4 penelitian menyelidiki efek penghambatan produksi asam dari sukrosa atau glukosa. Delapan penelitian melaporkan aktivitas bakteristatik melawan *Streptococcus mutans*, dan sebuah penelitian melaporkan aktivitas bakterisid melawan *Streptococcus mutans*. Selain itu, ekstrak tanaman menimbulkan turunnya regulasi dari beberapa enzim penting pada metabolisme *Streptococcus mutans*, seperti enzim-enzim yang bertanggung jawab untuk asam amino, karbohidrat, sintesis lipid dan nukleus dan untuk translasi. Dengan demikian, penelitian-penelitian tentang ekstrak tanaman secara konsisten menunjukkan aktivitas perlawanan terhadap beberapa kegiatan metabolisme *Streptococcus mutans*, sehingga menghasilkan terhambatnya

pertumbuhan dan virulensi *Streptococcus mutans*. Akan tetapi, hal ini tidak dapat dikaitkan semata-mata hanya karena polifenol dari ekstrak tanaman, karena pada tanaman juga mengandung komponen lainnya.

2. Studi in vitro meneliti mengenai efek senyawa polifenol tertentu melawan *Streptococcus mutans*. Beberapa diantaranya melaporkan aktivitas penghambatan dari glukosiltransferase dari sintesis glukosa yang tidak larut. Namun, hanya satu bagian kecil dari semua polifenol menunjukkan aktivitas tersebut, seperti polimer dari polifenol pada teh dan pecahan mono-, di-, tri-merik dari polifenol pada apel. Berbeda dengan polifenol pada cranberi dan anggur lebih aktif dalam jumlah banyak dibandingkan dalam bentuk pecahan atau dengan kata lain dalam jumlah sedikit. Empat penelitian melaporkan aktivitas penghambatan dari produksi asam oleh *Streptococcus mutans* dan sebagian menganggap penghambatan proton enzim bakteri translokasi F-ATP yang membawa proton keluar dari sel dan mengurangi pengaruh negatif dari pengasaman pada proses metabolisme, sehingga menurunkan pH ekstraseluler. Satu penelitian melaporkan aktivitas penghambatan perlekatan *Streptococcus mutans* pada hidroksiapatit, sedangkan penelitian lainnya melaporkan tidak ada pengaruh terhadap remineralisasi email. Dua penelitian melaporkan aktivitas bakteristatik dengan penghambatan pertumbuhan *Streptococcus mutans*, dan 3 penelitian melaporkan bahwa tidak ada efek bakterisid. Berdasarkan dua penelitian, tannin menghambat alfa-amilase dari saliva manusia yang mengkatalis hidrolisis dari amilum menjadi oligosakarida dan mengikat pada *Streptococcus mutans* dan email, sehingga menyediakan sumber makanan asam bagi mikroorganisme kariogenik pada

permukaan gigi. Ditambah lagi, flavonol dari kakao menstimulasi sel mononuklear darah perifer untuk mensekresi interleukin-5 yang selanjutnya menstimulasi produksi IgA, sehingga memungkinkan perlindungan melawan *Streptococcus mutans*. Semuanya dianggap meskipun beberapa senyawa polifenol dapat menghambat enzim bakteri dan manusia yang terkait dalam etiologi karies, tidak ada kejelasan mengenai aktivitas antibakteri yang langsung.

3. Penelitian pada hewan. Penelitian-penelitian pada tikus secara umum menunjukkan pola yang mirip, dengan hewan yang awalnya terinfeksi *Streptococcus mutans*, secara berturut-turut diberi makan makanan kariogenik tinggi dilengkapi dengan ekstrak tanaman atau polifenol (untuk kelompok yang diuji) dan tidak diberi makan makanan kariogenik tinggi (untuk kelompok yang dikontrol). Skor karies dan level plak gigi digunakan sebagai hasil pengukuran. Ekstrak kakao yang mengandung 10-13% w/w polifenol dan ekstrak daun teh oolong yang mengandung 16% w/w polifenol menurunkan peningkatan karies dan level plak gigi. Naringenin menunjukkan efek anti-karies/anti-plak dan sedangkan 0,57% w/w quercetin dan naringenin menurunkan peningkatan karies, sedangkan Rutin tidak menunjukkan hal tersebut.

Jadi, penelitian pada tikus menimbulkan pemikiran mengenai aktivitas anti-karies dan anti-plak dari senyawa-senyawa polifenol pada tikus yang diberi makan dengan makanan kariogenik tinggi.

4. Penelitian pada manusia. Berdasarkan satu penelitian observasional, peminum kopi, kopi barley, teh dan minuman anggur (wine) menunjukkan

jumlah *Lactobacillus* dan *Streptococcus mutans* pada saliva dan plak gigi lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak minum kopi, teh dan wine. Akan tetapi kualitas penelitian ini rendah karena penulis tidak memperhitungkan faktor perancu penting, seperti kebersihan mulut dan variabel diet lainnya. Tiga uji klinis *double-blind* meneliti efektivitas dari polifenol yang terkandung di dalam larutan kumur pada akumulasi plak dan *Streptococcus mutans* memiliki pola yang mirip. Yakni, tingkat akumulasi plak dan *Streptococcus mutans* pada plak atau saliva dikaji pada kelompok orang dewasa yang menerima profilaksis menyeluruh untuk menghilangkan plak gigi di awal penelitian dan menahan diri untuk tidak membersihkan mulut kecuali berkumur menggunakan larutan kumur plasebo selama 72 jam. Pada penelitian pertama, dengan larutan kumur yang terbuat dari ekstrak daun teh oolong (0.2 mg/ml polifenol), relawan berkumur dengan larutan tersebut sembilan kali sehari dan menahan diri untuk minum kopi atau teh. Setelah satu minggu, subjek mengulangi hal tersebut menggunakan larutan kumur plasebo. Secara signifikan, rata-rata lebih rendah Indeks Plak dan non-signifikan lebih tinggi tingkat *Streptococcus mutans* yang diamati selama periode pengujian.

Pada penelitian kedua, menggunakan larutan kumur yang mengandung ekstrak kulit ari biji kakao (sekitar 0,13 mg/ml polifenol) digunakan aturan penelitian yang sama dengan penelitian sebelumnya, dengan perbedaan bahwa subjek harus menahan diri untuk minum teh, kopi, coklat dan tidak makan coklat. Secara signifikan, lebih rendah rata-rata Indeks plak dan tingkat *Streptococcus mutans* yang diamati selama periode pengujian.

## II.7 *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Lebih dari 700 bakteri telah ditemukan di rongga mulut, namun tidak semua ada dalam mulut yang sama. Komposisi bervariasi di tempat yang berbeda dalam rongga mulut, misalnya, jumlah bakteri lebih besar dan lebih beragam pada dorsum lidah. Sebagian besar dari mikroba tersebut tidak berbahaya, tetapi dalam kondisi tertentu bisa menyebabkan infeksi mulut seperti karies atau penyakit periodontal. *Streptococcus* pada rongga mulut seperti *Streptococcus mutans* yang dikemukakan pertama kali oleh Jk Clark pada tahun 1924, dikaitkan dengan infeksi piogenik dan infeksi lainnya di berbagai tempat termasuk mulut, jantung, sendi, kulit, otot, dan sistem saraf pusat. *S. mutans* memiliki peran utama dalam etiologi karies gigi.<sup>4</sup>

*Streptococcus mutans* merupakan kunci dari perkembangan biofilm virulensi, meskipun beberapa mikroorganisme lain juga terkait dalam perjalanan penyakit karies [Beighton, 2005]. Bakteri ini secara efektif memanfaatkan sukrosa dari diet (zat tepung) untuk sintesis EPS secara cepat melalui aktivitas glukosiltransferase dan fruktosiltransferase yang meresap pada pelikel saliva pada permukaan email gigi, bakteri ini juga menempel erat pada permukaan lapisan glukan dan bakteri ini merupakan bakteri yang dapat menghasilkan asam serta tahan terhadap asam (Bowen, 2002; Quivey et al., 2000). Jadi, *Streptococcus mutans* berkembang dengan baik dalam keseluruhan rongga mulut dan efektif mengatur perubahan sifatnya dari bakteri non-patogen menjadi biofilm kariogenik.<sup>14</sup>

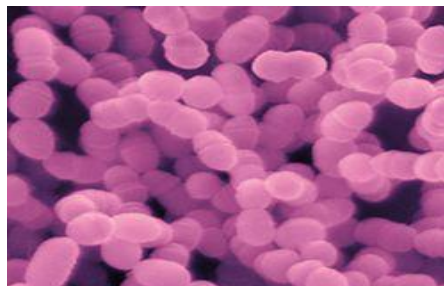
### II.7.1 Klasifikasi *Streptococcus mutans*

Klasifikasi *Streptococcuss mutans* menurut Bergey dan Capuccino (2008) adalah :

Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Lactobacilalles
Family	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Species	: <i>Streptococcus mutans</i>

### II.7.2 Morfologi *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak), bakteri anaerob fakultatif. Berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. *Streptococcus mutans* bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, dan asidodurik yaitu mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Oleh karena kemampuan ini, *Streptococcus mutans* dapat melengket dengan mudah dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, mendukung pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya, dan asam bakteri lebih mudah melarutkan email gigi.<sup>15</sup>



Gambar 6. *Streptococcus mutans*. Available from [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Streptococcus\\_mutans](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Streptococcus_mutans)  
Accessed on September, 5 2014

## II.8 *STREPTOCOCCUS MUTANS* DAN KARIES GIGI

Agen karies yang paling umum diketahui adalah *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus*; agen etiologi tambahan *Lactobacillus* dan *Actinomyces*. Faktor-faktor lain, seperti kerentanan gigi terhadap demineralisasi, kebersihan mulut, kebiasaan diet (seperti frekuensi makan) asupan gula, dan ketersediaan beberapa unsur mineral, memberikan kontribusi terhadap pembentukan karies.<sup>16</sup>

Dari *Streptococcus mutans*, beberapa faktor seperti perlekatan pada permukaan enamel, produksi metabolit asam, kemampuan untuk membangun cadangan glikogen dan kemampuan untuk mensintesis polisakarida ekstraseluler yang menyebabkan karies gigi. *Streptococcus mutans* dan *lactobacilli* adalah produsen asam kuat dan karenanya menyebabkan lingkungan asam menciptakan risiko untuk gigi berlubang. Biasanya, munculnya *S. mutans* dalam rongga gigi diikuti oleh karies setelah 6-24 bulan. *S. mutans* mampu membentuk polisakarida ekstraseluler (EPS) dengan adanya sukrosa, fruktosa dan glukosa. Polisakarida ekstraseluler (EPS) merupakan polimer rantai panjang dan memiliki massa molekul yang tinggi. Energi kaya ikatan glikosidik antara gugus glukosa dan fruktosa menyuplai energi bebas yang diperlukan untuk sintesis EPS. Glukosa homopolisakarida disebut glukukan sementara fruktosa homopolisakarida disebut fruktan. Glukan diproduksi oleh glucosyltransferases (GTF) sementara fruktan diproduksi oleh fruktosiltransferase (FTF). Produksi EPS dalam jumlah besar dari sukrosa merupakan faktor penting dari kariogenitas *S. mutans*. Pada proses selanjutnya, bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi. Hasil akhir dari glikolisis tersebut di bawah kondisi-kondisi aerob merupakan asam laktat. Asam laktat kemudian menciptakan kadar keasaman yang ekstra untuk menurunkan pH dalam jumlah tertentu menghancurkan zat kapur fosfat di dalam email gigi sehingga mendorong ke arah pembentukan karies.<sup>4</sup>



### **II.8.1 Resiko Karies Pada Anak**

Risiko karies adalah kemungkinan berkembangnya karies pada individu atau terjadinya perubahan status kesehatan yang mendukung terjadinya karies pada suatu periode tertentu. Risiko karies bervariasi pada setiap individu tergantung pada keseimbangan faktor pencetus dan penghambat terjadinya karies. Risiko karies dibagi menjadi tiga tingkatan yaitu risiko karies tinggi, sedang dan rendah. Agar dapat mengidentifikasi risiko karies anak digunakan suatu penilaian risiko karies. Penilaian risiko karies ini merupakan suatu metode evaluasi klinik di mana dokter gigi nantinya dapat menyesuaikan tindakan pencegahan dan perawatan pada setiap anak. Penilaian risiko karies ini harus dilakukan pada setiap anak sebagai suatu pemeriksaan dasar rutin. Menurut *American Academy of Pediatric Dentistry*, penilaian risiko karies pada anak berdasarkan atas tiga bagian besar indikator karies yaitu: kondisi klinik, karakteristik lingkungan, dan kondisi kesehatan umum.<sup>2</sup>

1. Risiko karies berdasarkan kondisi klinik..
  - a. Dikatakan resiko rendah apabila;
    1. Tidak ada karies gigi selama 24 bulan (2 tahun) terakhir
    2. Tidak ada demineralisasi email
    3. Tidak ada plak dan tidak mengalami gingivitis
  - b. Dikatakan resiko sedang apabila;
    1. Ada karies gigi dalam waktu 2 tahun terakhir
    2. Terdapat satu daerah demineralisasi
    3. mengalami gingivitis
  - c. Dikatakan resiko tinggi apabila;

1. Ada karies selama 12 bulan terakhir
  2. Terdapat satu area demineralisasi enamel (karies enamel *white spot lesion*)
  3. Secara radiografi dijumpai karies enamel
  4. Dijumpai plak pada gigi anterior
  5. Banyak jumlah *S. Mutans*
  6. Menggunakan alat ortodonti
2. Berdasarkan karakteristik lingkungan
- a. Dikatakan resiko rendah apabila;
    1. Keadaan optimal dari penggunaan fluor secara sistemik dan topikal
    2. Mengonsumsi sedikit gula atau makanan yang berkaitan erat dengan permulaan karies terutama pada saat makan
    3. Status sosial ekonomi yang tinggi
    4. Kunjungan berkala ke dokter gigi secara teratur
  - b. Dikatakan resiko sedang, apabila;
    1. Keadaan yang suboptimal pengguna fluor secara sistemik dan optimal pada penggunaan topikal aplikasi
    2. Sekali-sekali (satu atau dua) di antara waktu makan terkena gula simpel atau makanan yang sangat berkaitan terjadinya karies
    3. Status sosial ekonomi menengah
    4. Kunjungan berkala ke dokter gigi tidak teratur
  - c. Dikatakan resiko tinggi apabila;
    1. Penggunaan topikal fluor yang suboptimal

2. Sering memakan gula atau makanan yang sangat berhubungan dengan karies di antara waktu makan
3. Status sosial ekonomi yang rendah
4. Karies aktif pada ibu
5. Jarang ke dokter gigi.

Meskipun pengetahuan kita mengenai biologi karies sudah menunjukkan perkembangan yang sangat besar dalam pencegahan karies pada anak-anak dan orang dewasa, seperti kemajuan air minum yang mengandung fluoride dan upaya pemerintah agar masyarakat menjaga kebersihan rongga mulut dan kebiasaan konsumsi jenis makanan, namun hal ini dilihat belum cukup signifikan mempengaruhi atau memberikan perubahan sikap masyarakat.

Dokter gigi sebaiknya fokus terhadap anak-anak yang kebanyakan beresiko tinggi karies, diperlukan usaha dan kesadaran kedepannya. Joel H. Berg (2013) mengemukakan beberapa pertanyaan penting untuk kedepannya yang sebenarnya sudah ramai dibicarakan namun masih belum betul-betul terjawab, seperti:

- Kenapa beberapa anak-anak memiliki kavitas (karies), sedangkan yang lain tidak padahal mereka berada dalam satu keluarga, mengonsumsi makanan dan memiliki kebiasaan kebersihan yang sama?
- Apakah *Streptococcus mutans* benar-benar merupakan bakteri asidogenik utama yang bertanggung jawab atas pembentukan karies ataukah terdapat bakteri lain yang hanya saja tidak mudah dikultivasi?
- Apakah ada alat dan teknik baru yang dapat kita gunakan untuk mendeteksi karies sebelum penyakit ini berkembang?

- Sekali proses penyakit ini berjalan, apakah cara terbaik untuk menangani penyakit ini dan meminimalisir konsekuensi dari penyakit ini?

Pertanyaan penting ini mengacu pada 4 kategori; identifikasi mikroflora kariogenik yang baru, faktor host dan kerentanan terhadap karies, prediksi resiko karies, dan bahan dental dan penanganan penyakit. Pencegahan dan penanganan dari penyakit wabah ini akan sangat baik jika dilakukan dengan usaha koordinasi bersama individu atau kelompok yang juga peduli akan hidup yang lebih baik untuk anak-anak.<sup>22</sup>

**BAB III**  
**KERANGKA KONSEP**

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **IV.1 JENIS PENELITIAN**

- IV.1.1 Ruang Lingkup Penelitian : Klinis
- IV.1.2 Waktu Penelitian : Time Series
- IV.1.3 Substansi : Terapan
- IV.1.4 Hubungan Antar Variabel : Analitik
- IV.1.5 Adanya Perlakuan : Quase Eksperimental

#### **IV.2 DESAIN PENELITIAN**

Desain penelitian ini menggunakan desain penelitian *cross-sectional study*

#### **IV.3 LOKASI PENELITIAN**

Lokasi penelitian dilakukan di SMP Negeri 25 Makassar dan Laboratorium Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

#### **IV.4 WAKTU PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – September 2014

#### **IV.5 POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN**

Populasi dan sampel penelitian yang digunakan adalah murid SMP Negeri 25 Makassar usia 12-14 tahun. Sedangkan yang menjadi sampel penelitian adalah 30 anak usia 12-14 tahun dengan indeks OHI-S sedang.

#### **IV.6 METODE PENGAMBILAN SAMPEL**

Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling*.

#### **IV.7 JUMLAH SAMPEL**

Jumlah sampel pada penelitian ini adalah 30 orang.

#### **IV.8 KRITERIA SAMPEL**

##### **IV.8.1 KRITERIA INKLUSI**

1. Sampel yang dipilih memiliki indeks OHI-S sedang
2. Sampel yang tidak mengonsumsi antibiotik dalam 3 bulan
3. Sampel yang bersedia mengikuti prosedur penelitian.

##### **IV.8.2 KRITERIA EKSKLUSI**

1. Sampel yang memiliki penyakit sistemik
2. Sampel yang menderita alergi tertentu
3. Sampel tiba-tiba tidak bersedia mengikuti prosedur penelitian.

#### **IV.9 VARIABEL PENELITIAN**

Variabel independen : Larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1%

Variabel dependen : Jumlah koloni *Streptococcus mutans*

#### IV.10 ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini, antara lain:

- |                                     |                        |
|-------------------------------------|------------------------|
| 1. Oral diagnostik set              | 7. Pipet tetes         |
| 2. Pot plastik tempat sampel saliva | 8. Handskun dan masker |
| 3. Gelas                            | 9. Inkubator           |
| 4. Cawan petri                      | 10. Alat Sterilisator  |
| 5. Tabung reaksi                    | 11. Rotavapor          |
| 6. Gelas kimia dan kertas filter    |                        |

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain:

1. Pembuatan larutan kumur ekstrak etanol 0,1%, antara lain:

1. Kulit biji kakao kering sebanyak 500mg
2. Etanol 96%
3. Aquades steril

2. Penghitungan koloni

1. Media GNA ( *Glucose Nutrient Agar*), sebagai media uji bakteri *Streptococcus mutans*
2. Aquades steril

#### IV.11 DEFINISI OPERASIONAL

- Larutan ekstrak ethanol kulit biji kakao 0,1% adalah larutan kumur yang terbuat dari kulit biji kakao kering, ethanol dan aquades. Cara pemakaian dengan berkumur larutan ini selama 30 detik.



- Anak usia 12-14 tahun adalah usia anak yang dihitung berdasarkan tahun kelahiran, bukan tanggal dan bulan kelahiran.
- *Oral Hygiene Indeks – Simplified (OHI-S)* adalah alat ukur yang digunakan untuk mengukur angka kebersihan gigi dan mulut seseorang.
- *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang diambil dari saliva anak, kemudian dibiakkan dalam medium dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh menggunakan metode *colony counter* dengan satuan (*Colony Forming Unit*)

#### IV.12 PROSEDUR PENELITIAN

- Tahap 1

Pembuatan larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1%

1. Disediakan kulit biji kakao (shell) kering sebanyak 500mg dan larutan ethanol 96% sebanyak 700ml.
2. Lakukan ekstraksi kulit biji kakao melalui proses maserasi, dimana kulit biji kakao yang disediakan direndam dengan cairan etanol pada suhu ruangan selama 3 hari untuk mendapatkan zat yang terkandung dalam kulit biji kakao.
3. Setelah 3 hari proses maserasi, saring cairan campuran etanol dan zat kimia kulit biji kakao dan tampung ke dalam labu erlenmeyer.
4. Kemudian, dilakukan evaporasi. Evaporasi merupakan proses pemisahan antara cairan pelarut (dalam hal ini etanol) dan zat kimia kulit biji kakao (polifenol) untuk mendapatkan ekstrak murni dari kulit biji kakao. Proses ini menggunakan alat yang disebut rotavapor sampai didapatkan ekstrak kulit biji kakao dalam bentuk semi-gel.

5. Didapatkan sebanyak 153 mg ekstrak kulit biji kakao dalam bentuk semi-gel.
  6. Selanjutnya ekstrak tersebut dilarutkan dengan aquades untuk membuat larutan kumur. Adapun konsentrasi akhir dari larutan kumur tersebut adalah  $0,1\% = 0,1 \text{ g} / 100 \text{ ml}$ .
  7. Kemudian, hasil akhir larutan tersebut disimpan di dalam botol kaca steril.
- Tahap 2

#### Pengambilan sampel

1. Dilakukan pemeriksaan dan penentuan status kebersihan mulut dengan mengacu pada indeks OHI-S pada anak usia 12-14 tahun, pengambilan sampel pada anak usia 12-14 tahun yang memiliki status OHI-S sedang.
2. Sampel yang dibutuhkan sebanyak 30 orang, dimana diberikan 1 kali perlakuan, yakni berkumur dengan larutan ekstrak ethanol kulit biji kakao 0,1%.
3. Tindakan pertama yang dilakukan yaitu pengambilan saliva awal tanpa intervensi apapun kemudian saliva tersebut ditampung di dalam pot plastik steril yang disediakan.
4. Larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% diberikan pada masing-masing anak dengan cara anak diinstruksikan berkumur dengan larutan tersebut sebanyak 15 ml selama 30 detik. Setelah itu, anak diinstruksikan untuk membuang larutan yang dikumurkan.
5. Setelah 15 menit berkumur, dilakukan pengambilan saliva kedua yang ditampung di dalam pot plastik.

6. 30 menit kemudian dilakukan pengambilan saliva ketiga yang ditampung di dalam pot plastik.
  7. Selanjutnya, sampel yang dikumpulkan dalam pot plastik tersebut dibawa ke laboratorium untuk evaluasi jumlah koloni *Streptococcus mutans*.
- Tahap III
- Prosedur Laboratoris
1. Siapkan alat dan bahan
  2. Sterilkan alat yang akan digunakan terlebih dahulu di dalam oven
  3. Dilakukan pengambilan saliva dari pot plastik menggunakan pipet tetes kimia ke dalam tabung reaksi berisi aquades steril. Prosedur ini disebut pengenceran. Pengenceran kemudian dilakukan sampai  $10^{-3}$ .
  4. Hasil pengenceran  $10^{-3}$  kemudian diisolasi dengan cara digoreskan menggunakan senkelit sebanyak 0,05 ml secara aseptik di cawan petri yang telah diberi tanda dan berisi medium GNA, yang digunakan untuk membiakkan bakteri *Streptococcus mutans*.
  5. Kemudian diinkubasi di dalam inkubator selama 1x24 jam untuk bakteri *Streptococcus mutans* dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
  6. Selanjutnya, setelah diinkubasi dilakukan pengamatan bakteri dan penghitungan jumlah bakteri *Streptococcus mutans* menggunakan metode colony counter dengan satuan *Colony Forming Unit (CFU)*.
  7. Hasil perhitungan jumlah bakteri kemudian diperoleh dan dicatat dalam bentuk tabel.

#### **IV.13 DATA PENELITIAN**

##### **I3.14.1 Jenis data**

Jenis data yang digunakan adalah data primer.

##### **I3.14.2 Penyajian data**

Data disajikan dalam bentuk tabel dan uraian.

##### **I3.14.3 Pengelolaan data**

Pengelolaan data menggunakan software SPSS versi 22.0 for windows

##### **I3.14.4 Analisis data**

Analisis data dilakukan dengan uji ANOVA dan uji t berpasangan.

#### **IV.14 ALUR PENELITIAN**

## **BAB V**

### **HASIL PENELITIAN**

Telah dilakukan penelitian mengenai efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% terhadap penurunan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada saliva anak usia 12-14 tahun. Populasi penelitian ini adalah siswa-siswi SMP Negeri 25 Makassar yang memenuhi kriteria inklusi dan sampel ditentukan berdasarkan kriteria sampel. Penentuan sampel dilakukan dengan metode *Simple Random Sampling*. Jumlah sampel pada penelitian ini adalah sebanyak 30 anak dan tanpa *drop out*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan desain penelitian *cross-sectional study*.

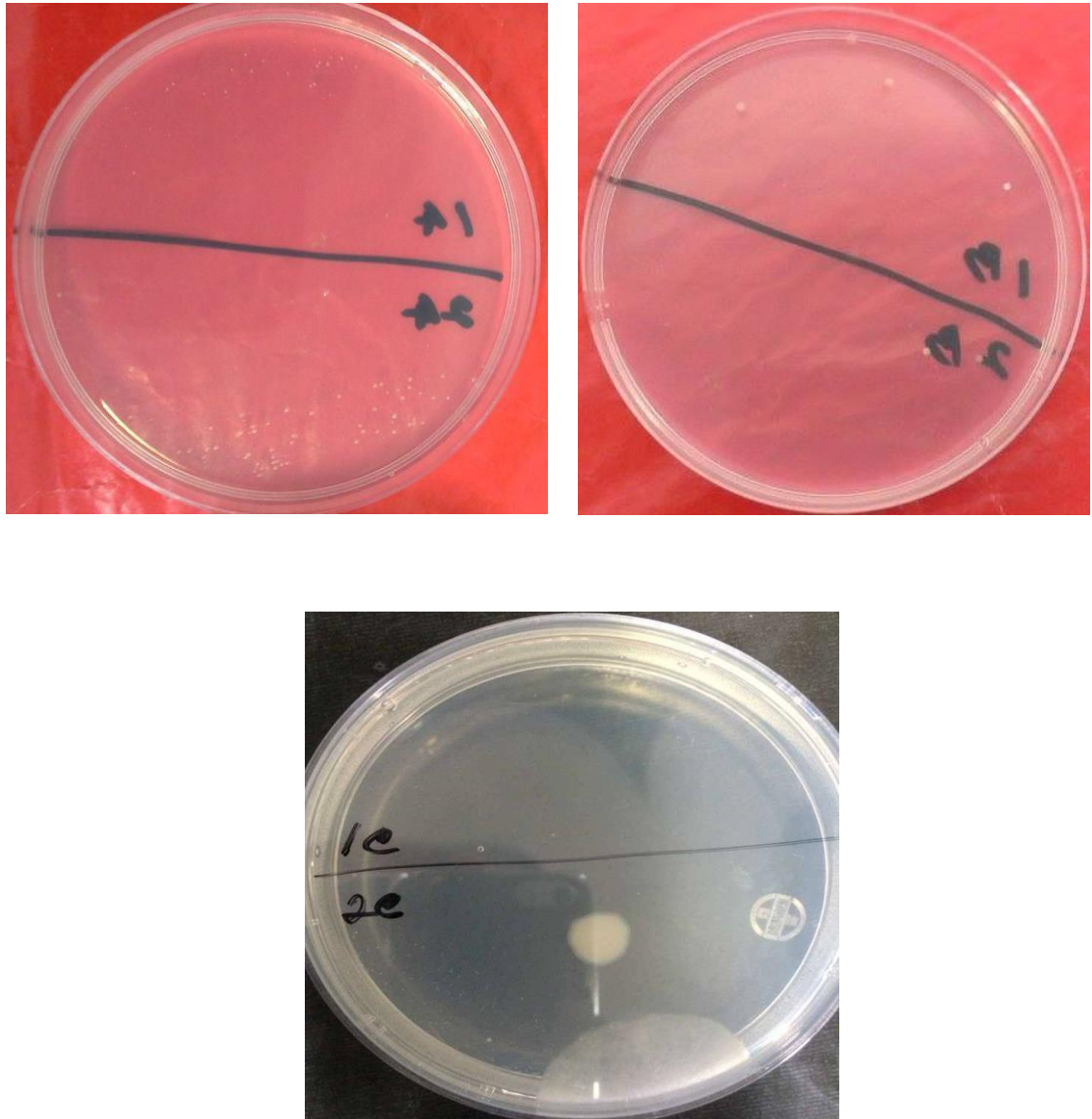
Pada penelitian ini dilakukan penghitungan jumlah koloni *Streptococcus mutans* sebanyak 3 kali. Masing-masing sampel mendapatkan perlakuan yang sama, yaitu perlakuan pertama (pengambilan saliva tanpa intervensi (pre-test) dan perlakuan kedua (pemberian larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% sebanyak 15 ml. Setiap perlakuan intervensi bahan, dilakukan pengambilan sampel saliva sebanyak dua kali, yaitu 15 menit dan 30 menit setelah pemberian intervensi. Jumlah koloni *Streptococcus mutans* diukur dengan satuan CFU (*Colony Forming Unit*). Kemudian seluruh hasil data penelitian dicatat dan dilakukan pengolahan dan analisis data dengan menggunakan program SPSS versi 18.0. Hasil penelitian ditampilkan dalam tabel distribusi sebagai berikut:

**Tabel V.1** Distribusi karakteristik sampel penelitian

Karakteristik sampel penelitian	Frekuensi (n)	Persen (%)	<i>Mean ± SD</i>
Jenis Kelamin			
Laki-laki	18	60	
Perempuan	12	40	
Usia			
12 tahun	4	13.3	
13 tahun	22	73.3	
14 tahun	4	13.3	
Nilai kebersihan mulut (OHI-S)			1.45 ± 0.17
Jumlah koloni <i>S.mutan</i> sebelum (Pretest)			59.10 ± 42.43
Efek larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1%	30	100	
Jumlah koloni 15 menit (Posttest 1)			25.73 ± 20.00
Jumlah koloni 30 menit (Posttest 2)			9.40 ± 10.60

Tabel V.1 menunjukkan distribusi karakteristik sampel penelitian yang seluruhnya berjumlah 30 orang. Dilihat pada tabel pendistribusian sampel di atas, jumlah laki-laki lebih banyak dibanding perempuan, yaitu 18 laki-laki (60%) dan 12 perempuan (40%). Sesuai dengan kriteria inklusi sampel yang telah ditetapkan oleh peneliti bahwa nilai kebersihan mulut harus sedang, maka diperoleh rata-rata nilai kebersihan mulut sampel penelitian sebesar 1.45. Jumlah koloni *Streptococcus mutans* (CFU/ml) sebelum intervensi (pretest) adalah 59.10 CFU/ml. Kemudian setelah intervensi larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% pada menit ke-15 menjadi 25.73 CFU/ml dan setelah menit ke-30 menurun hingga 9.40 CFU/ml.

Terlihat bahwa terjadi penurunan jumlah *Streptococcus mutans* yang signifikan dari sebelum perlakuan ke menit 15 hingga menit ke-30 setelah perlakuan.



Gambar II.8. Penurunan jumlah koloni *Streptococcus mutans* sampel 1 dan 2 dalam interval waktu penelitian (pre-post1-post2). Sumber: Dokumentasi Pribadi Peneliti



**Tabel V.2** Perbedaan efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0.1% berdasarkan interval waktu.

Bahan Perlakuan	CFU Pretest	CFU 15 menit	CFU 30 menit	<i>p-value</i>
	<i>Mean ± SD</i>	<i>Mean ± SD</i>	<i>Mean ± SD</i>	
Larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0.1%	59.10 ± 42.43	25.73 ± 20.00	9.40 ± 10.60	0.000*

\**Analysis of Variance (ANOVA) test:  $p < 0.05$ ; significant.*

Tabel V.2 dan gambar II.8 menunjukkan efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% yang digunakan sebagai bahan perlakuan pada penelitian. Dari tabel V.2 dan gambar II.8 dapat dilihat adanya penurunan jumlah *Streptococcus mutans* pada sampel sebelum intervensi, ke 15 menit setelah intervensi dan 30 menit setelah intervensi. Penurunan yang dihasilkan oleh bahan perlakuan secara statistik adalah penurunan yang signifikan. Berdasarkan hasil uji ANOVA, dengan hasil yang diperoleh nilai  $p=0.000$  ( $p < 0.05$ ; significant). Dengan kata lain, larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% ini memiliki efektivitas yang signifikan dalam mengurangi jumlah *Streptococcus mutans*.

**Tabel V.3** Perbedaan efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% menurut interval waktu terkait dengan Kelompok Usia

Kelompok usia	CFU Pretest	CFU 15 menit	CFU 30 menit	<i>p-value</i>
	<i>Mean ± SD</i>	<i>Mean ± SD</i>	<i>Mean ± SD</i>	
12 tahun	43.50 ± 7.76	27.50 ± 16.27	16.50 ± 14.36	0.053*
13 tahun	62.36 ± 47.85	24.95 ± 22.32	8.27 ± 9.24	0.000*
14 tahun	56.75 ± 30.07	28.25 ± 11.58	8.50 ± 11.21	0.021*

\* *Analysis of Variance (ANOVA) test:  $p < 0.05$ ; significant*

Tabel V.3 memperlihatkan efektivitas larutan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1%. Dari tabel V.3 dapat dilihat adanya perbedaan penurunan jumlah koloni *Streptococcus mutans* berdasarkan kelompok umur sampel pada 15 menit setelah intervensi, dan 30 menit setelah intervensi. Terdapat perbedaan signifikansi penurunan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada kelompok usia sampel. Pada sampel usia 12 tahun, penurunan yang terjadi tidak signifikan,  $p=0.053$ . Sedangkan pada anak usia 13 tahun penurunan yang terjadi signifikan,  $p=0.000$  dan pada anak usia 14 tahun juga signifikan,  $p=0.021$ .

**Tabel V.4** Perbedaan efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% berdasarkan Kelompok Waktu Perlakuan

	Kelompok	<i>Mean ± SD</i>	<i>Mean Difference</i>	<i>p value</i>
1	CFU pre test	59.10 ± 42.43	33.366	0.000*
	CFU 15 menit	25.73 ± 20.10		
2	CFU pre test	59.10 ± 42.43	49.700	0.000*
	CFU 30menit	9.40 ± 10.61		
3	CFU 15 menit	25.73 ± 2 0.10	16.333	0.000*
	CFU 30menit	9.40 ± 10.61		

*Paired sample t-test: p <0.05; significant*

Tabel V.4 menunjukkan hasil uji kelompok waktu perlakuan berdasarkan interval waktu sebelum dan setelah intervensi larutan kumur ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1%. Terlihat bahwa terjadi penurunan jumlah koloni pada kelompok 2 yaitu pre test sampai 30 menit setelah intervensi larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% hingga kurang lebih 49 CFU/ml koloni *Streptococcus mutans*. Selain itu, penurunan jumlah koloni berdasarkan interval waktu seluruhnya menunjukkan hasil yang signifikan melalui uji data *Paired sample t-test*.

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian ini memaparkan mengenai efektivitas larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% dalam menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada saliva anak usia 12-14 tahun. Penentuan kriteria sampel berdasarkan pada *Oral Hygiene Index – Simplified* (OHI-S) untuk mengukur nilai kebersihan rongga mulut sehingga dapat dipilih anak-anak yang akan dijadikan sampel penelitian. Alat ukur ini telah teruji validitas dan reliabilitasnya karena sering digunakan dalam beberapa rangkaian penelitian. Selain itu, alat ukur yang digunakan untuk menghitung jumlah koloni *Streptococcus mutans* yaitu *Colony Forming Unit* (CFU). Dari hasil uji coba, alat ukur ini menunjukkan validitas dengan terdapatnya perbedaan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada intervensi di waktu-waktu yang berbeda.

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% yang mengandung senyawa polifenol, khususnya turunan flavonoid berupa senyawa katekin dan epikatekin yang memiliki kemampuan anti-glukosiltransferase yang dapat menghambat aktivitas *Streptococcus mutans* dalam pembentukan plak gigi yang menjadi awal dari pembentukan karies gigi. Peneliti memutuskan menggunakan bahan dengan konsentrasi ini karena sesuai dengan beberapa penelitian, khususnya penelitian yang dilakukan oleh Shrikanti di India yang menyatakan bahwa larutan ekstrak kulit biji kakao dengan konsentrasi 0,1% memiliki pengaruh signifikan dalam menurunkan jumlah *Streptococcus mutans* pada saliva dan plak gigi anak-anak.<sup>12,19</sup>

Dari data yang didapatkan, terlihat adanya perbedaan jumlah koloni *Streptococcus mutans* dari waktu ke waktu sebelum dan setelah intervensi (pretest – post test 1 – post test 2). Berdasarkan tabel V.2 dapat diketahui bahwa terjadi penurunan jumlah *Streptococcus mutans* yang signifikan, sehingga dapat diketahui bahwa larutan kumur tersebut memang efektif dalam mengurangi jumlah *Streptococcus mutans*.

Efektivitas dari larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% yang digunakan sebagai larutan kumur dalam intervensi pada penelitian ini, telah terbukti menunjukkan penurunan jumlah bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian Osawa et.al tahun 2001 menarik perhatian karena melaporkan hasil penelitiannya bahwa kulit biji kakao menunjukkan kandungan polifenol yang memiliki aktivitas anti-glukosiltransferase yang kuat. Komponen utama dari polifenol yang terdapat pada kulit biji kakao adalah katekin dan epikatekin. Selain itu, dari penelitian ini ditemukan kandungan asam lemak bebas seperti asam oleic dan asam linoleic yang menunjukkan aktivitas bakterisid yang kuat terhadap *S.mutans*. Glukosiltransferase merupakan salah satu hasil produksi *Streptococcus mutans* yang memiliki peran dalam pembentukan plak gigi dan mempermudah demineralisasi email gigi. Menurut Fukui et.al, pada tahun 1980 mendemonstrasikan bahwa kedua jenis asam lemak bebas ini memiliki antibakteri yang kuat yang melawan *S.mutans*, sedangkan asam oleic menunjukkan kerjanya dalam mencegah pertumbuhan *S.mutans*. Berbagai jenis flavonoid juga ditemukan pada kulit biji kakao.<sup>13</sup>

Selain mereduksi jumlah *Streptococcus mutans*, ekstrak kulit biji kakao 0,1% juga efektif mengurangi akumulasi plak pada anak-anak di India. Disamping itu,

kandungan polifenol yang cukup tinggi pada ekstrak kulit biji kakao memungkinkan untuk mencegah terbentuknya ulserasi dan sel kanker pada rongga mulut.<sup>9,12</sup>

Dari hasil penelitian juga menunjukkan penurunan jumlah koloni pada kelompok waktu perlakuan, misalnya pada kelompok 2 hasil pretest sampai 30 menit setelah intervensi larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% hingga kurang lebih 49 koloni *Streptococcus mutans*. Selain itu, penurunan jumlah koloni berdasarkan kelompok interval waktu seluruhnya menunjukkan hasil yang signifikan karena telah melalui uji data *Paired sample t-test*.

Dengan demikian terlihat pada penelitian ini bahwa bahan perlakuan pada penelitian ini efektif dalam menurunkan jumlah *Streptococcus mutans* pada saliva anak-anak. Perlu diketahui bahwa pelarut yang aman dalam mengekstrak kulit biji kakao adalah aseton, etanol dan metanol.<sup>20</sup>

Keterbatasan dari penelitian ini adalah peneliti adalah peneliti cukup sulit untuk mengontrol sampel selama pemberian intervensi dan perhitungan koloni hanya dengan cara manual yang memungkinkan memberi hasil yang kurang maksimal.

## **BAB VII**

### **PENUTUP**

#### **VII.1 KESIMPULAN**

Berdasarkan pembahasan dan hasil penelitian yang dilakukan di SMP Negeri 25 Makassar dan Laboratorium Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Agustus – September 2014, maka dapat diambil kesimpulan, yaitu:

1. Terdapat efektivitas yang signifikan dari larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% dalam menurunkan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada saliva anak usia 12-14 tahun.
2. Berdasarkan literatur, bahwa tidak ada efek samping penggunaan ekstrak etanol kulit biji kakao sebagai obat kumur untuk menurunkan jumlah *Streptococcus mutans* pada saliva anak-anak, sehingga larutan ini aman digunakan di rumah. Akan tetapi, belum ada literatur yang mematenkan produk obat kumur dengan ekstrak kulit biji kakao.

#### **VII.2 SARAN**

Dari hasil penelitian yang diperoleh, selanjutnya dikemukakan beberapa sasaran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak kulit biji kakao terhadap kesehatan, khususnya kesehatan gigi dan mulut tidak hanya pada anak sekolah tapi juga masyarakat luas. Sehingga, nantinya selain dapat

memanfaatkan bahan alam untuk kebutuhan kesehatan, pengolahan kulit biji kakao sebagai produk kesehatan juga dapat mengurangi hasil limbah pabrik coklat.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar, dan tempat penelitian di berbagai sekolah di Makassar sehingga didapatkan hasil yang lebih akurat.
3. Dianjurkan kepada orang tua anak agar sebaiknya mengetahui informasi kesehatan gigi dan mulut anak dengan rutin berkunjung untuk memeriksakan kesehatan gigi dan mulut anak di dokter gigi.
4. Penggunaan obat kumur, baik herbal maupun non-herbal sebaiknya sesuai dengan anjurn dokter gigi.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. Riset kesehatan dasar, 2007; 130-147
2. Angela Ami. Pencegahan primer pada anak yang berisiko karies tinggi. Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.); 2005: 38 (3): 130-131
3. Ismu SS. Karies gigi pada anak dengan berbagai faktor etiologi. Jakarta: EGC; 1992: 6
4. Sofia D. Forssten , Marika Björklund, Arthur C. Ouwehand. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models, Nutrients;2010 :2 :290-298
5. Keerthi M, Lakshmi Prasanna J, Santhosh Aruna M, Rama Rao N. Review of polyphenol as nature gift. WJPP; 2014: 3 (4): 1
6. I Wayan Yasa. Indonesian Cocoa Beans: current situation. [internet]. Accessed on September 5 2014. Available from: <http://www.icco.org/sites/www.roundtablecocoa.org/documents/8%20Mr.%20I.%20Wayan%20Yasa%20-%20Indonesia.pdf>
7. Jumriah Langkong, Elly Ishak, Maryati Bilang, Junaedi Muhidong. Pemetaan lemak dari biji kakao (*Theobroma cacao L*) di Sulawesi Selatan. [internet]. Accessed on September 5 2014. Available from:
8. Ooshima T, et.al. Caries inhibitory activity of cacao bean husk extract in in-vitro and animal experiments. Arch Oral Biol: 2000: 45(8).

9. Stefano Petti, Crispian Scully. Polyphenols, oral health and disease: a review, J Of Dent; 2009 : 37: 413,416-418.
10. Institut Pertanian Bogor. Available from: <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/53015/BAB%20II%20Tinjauan%20Pustaka.pdf?sequence=3>. Accessed 12 Desember 2013.
11. C.L.Hii, C.L.Law, S. Suzannah, Misnawi. M. Cloke. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao L.*). As. J. Food Ag-Ind: 2009; 2(04), 702-704.
12. Srikanth R.K., Shashikiran N.D, Subha Reddy V.V. Chocolate mouth rinse: effect on plaque accumulation and mutansstreptococci counts when used by children, J Indian Soc Pedod Prevent Dent; 2008: 67-70
13. K. Osawa, K. Miyazaki, S.Shimura, J.Okuda, M. Matsumoto, T.Ooshima. Identification of cariostatic substances in the cocoa bean husk: Their anti-glucosyltransferase and antibacterial activities, J Dent Res; 2001: 80 (11).
14. J.-G.Jeon, P.L. Rosalen,M.L. Falsetta, H. Koo. Natural Products in Caries Research: Current (Limited) Knowledge, Challenges and Future Perspective. Caries Res: 2011; 45: 243-244.
15. Nugraha.A.W. *Plak dimana-mana*. Fakultas farmasi USD. Yogyakarta. 2008: 1-2.
16. Gabriella Gazzani, Maria Daglia and Adele Papetti. Food components with anticaries activity, Cobiote; 2011: 23: 1-7
17. Gianmaria F. Ferrazzano, et.al,. Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties. Molecules: 2014. [internet] Accessed on September 5, 2014. Available from: [www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules).

18. Michael Kofink, Menelaos Papagiannopoulos, Rudolf Galensa. (-)-Catechin in Cocoa and Chocolate: Occurrence and Analysis of an Atypical Flavan-3-ol Enantiomer. *Molecules*:2007: 12. [internet] Accessed on September 5, 2014. Available from: [www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules)
19. Wollgast Jan. The contents and effects of polyphenols in chocolate. Dissertation. University of Gießen: 2004: 20-24.
20. John Nsor-Atindana, Fang Zhong, Kebitsamang Joseph Mothibe, Mohamed Lamine Bangoura dan Camel Lagnika. Quantification of Total Polyphenolic Content and Antimicrobial Activity of Cocoa (*Theobroma cacao L.*) Bean Shells. *Pakistan. J. Nutr.*: 2012: 11 (7).
21. Devi Ayu Purnamasari, Elly Munadzirroh, R. Mohammad Yogiartono. Konsentrasi ekstrak biji kakao sebagai material alam dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI* : 2009; 59 (1): 17.
22. Joel H. Berg. Pediatric Dentistry. *Dent Clin N Am*: 2013; 57: 5-6

# LAMPIRAN

